



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده پزشکی افضلی پور

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته میکروب شناسی پزشکی

عنوان

بررسی خصوصیات مولکولی و ارتباط ژنتیکی ایزوله های /استافیلوکوکوس/ اورئوس جدا شده

از زخم بیماران بستری و ایزوله های جدا شده از بینی پرسنل بخش سوختگی بیمارستان

شهید صدوقی یزد در سال ۱۳۹۷

توسط

ولی داد

اساتید راهنما

دکتر فرشته صفاری | دکتر محمد مرادی

سال تحصیلی (بهمن ۱۳۹۸)

شماره پایان نامه: (۵۸۵)



**KERMAN UNIVERSITY
OF MEDICAL SCIENCES
Faculty of Medicine**

In Partial Fulfilment of the Requirements for the Degree MSc

Titel

Investigation for molecular characteristics and genetic relation in *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospitalized patients with those from nose of burn ward staff of Shahid Sadoughi Hospital in Yazd, 2018

by

Vali Dad

Supervisors

1-Dr. Fereshteh Saffari | 2-Dr. Mohammad Moradi

Thesis No: (585)

Date: (Feb, 2020)

چکیده

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل پیشتاز عفونت در مراکز سوختگی به حساب می آید. این باکتری ها به ویژه سویه های مقاوم به متی سیلین (MRSA)، علاوه بر کلونیزاسیون در بیماران بستری، میتوانند در بینی پرسنل نیز کلونیزه شوند و به این ترتیب منبع بالقوه ای برای گسترش عفونت های بیمارستانی خصوصا در بیمارانی که بخش جراحی یا سوختگی بستری می شوند، به وجود آورند. از آنجا که انتشار این سویه ها، تبعات سنگینی از جمله طولانی شدن زمان بستری در بیمارستان، عود مکرر عفونت، ایجاد سپتی سمی و یا حتی مرگ را ممکن است در پی داشته باشد، این تحقیق با هدف بررسی خصوصیات مولکولی و ارتباط ژنتیکی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم بیماران بستری و ایزوله های جدا شده از بینی پرسنل بخش سوختگی بیمارستان شهید صدوقی یزد در سال ۱۳۹۷ انجام شد.

روش کار: مجموعاً ۷۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم بیماران بستری جمع آوری گردید. همچنین از ۱۵۹ پرسنل شاغل در مرکز درمانی مذکور با هدف شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس، با استفاده از سواب بینی نمونه برداری انجام گرفته و ایزوله ها با استفاده از روش های استاندارد باکتریولوژیکی رایج شناسایی شدند. در ادامه حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها، توانایی تشکیل بیوفیلم و حضور ژنهای *pvl* (کد کننده توکسین پنتون - والنتین) و *acme* (کد کننده عنصر ژنتیکی متحرک آرژینین کاتابولیک) مورد بررسی قرار گرفت. تیپ بندی ایزوله ها با دو روش تعیین تیپ کاست کروموزومی استافیلوکوکی (*SCCmec typing*) و تعیین توالی ناحیه متغیر ژن کد کننده پروتئین A (*spa typing*) انجام شد.

نتایج: میزان حاملین بینی استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۰/۱ درصد (۱۶ از ۱۵۹) بود که از این تعداد ۵۶/۳ درصد (۹ از ۱۶)، حامل MRSA بودند. از ۷۰ ایزوله جدا شده از زخم بیماران نیز، ۳۰ نمونه (۴۲/۹ درصد) به عنوان MRSA شناسایی شدند.

بر اساس نتایج تعیین حساسیت ضد میکروبی، کلیه نمونه ها به وانکومایسین، لینزولید و کوئینوپریستین - دالفوپریستین حساس بودند. مقاومت به موپیروسین در ایزوله های بیماران و پرسنل به ترتیب در ۱۱/۴ و ۱۸/۸ درصد از موارد دیده شد. بروز مقاومت چند دارویی در بیشتر ایزوله های جدا شده از بیماران (۸۱/۴ درصد) و پرسنل (۸۱/۲ درصد) مشاهده گردید. این نسبت در میان ایزوله های MRSA بیماران، ۹۰ درصد و در ایزوله های پرسنل، ۷۷/۸ درصد گزارش شد.

شایع ترین تیپ های کاست کروموزومی استافیلوکوکسی در هر دو گروه مورد مطالعه مربوط به تیپ های I و III بود. در میان ایزوله های استافیلوکوکس اورئوس و ایزوله های MRSA، حضور ژن *pvl* به ترتیب در ۶۵/۷ و ۵۶/۷ درصد از بیماران و ۷۵ و ۶۶/۷ درصد از پرسنل یافت شد. فراوانی کلاسترهای ژنی *arc* و *opp* در ایزوله های MRSA جدا شده از بیماران به ترتیب ۶/۷ و ۴۰ درصد و در میان ایزوله های پرسنل هیچ موردی یافت نشد. توانایی تولید بیوفیلیم در کلونیزه های MRSA بیماران و پرسنل نیز به ترتیب در ۹۳/۳ و ۸۸/۹ درصد از موارد گزارش گردید.

براساس *spa typing* انجام شده بر روی تعدادی از ایزوله های MRSA، شایع ترین تیپ ها مربوط به تیپ های t021، t3024 و t2253 در گروه بیماران و تیپ های t224 و t084 در گروه پرسنل بود.

بحث: نتایج این تحقیق حاکی از شیوع بالای موارد MRSA در بیماران بستری و پرسنل درمانی این بیمارستان می باشد که وجود مقاومت دارویی چندگانه، توانایی بالای این ایزوله ها در تولید بیوفیلیم و حضور بالای *pvl* و *acme* می توانند به عنوان عوامل تسهیل کننده در کلونیزاسیون و ایجاد عفونت مطرح باشند.

یافتن یک کلونال کمپلکس در میان ایزوله های بالینی و مهم تر از آن، حضور سویه های متعلق به یک کلونال کمپلکس در میان ایزوله های بیماران و بینی پرسنل هشدار بر لزوم مراقبت های جدی تر کنترل عفونی در این بیمارستان می باشد.

واژه های کلیدی

استافیلوکوکوس اورئوس ، حاملین بینی ، ایزوله های مقاوم به متی سیلین ، بخش سوختگی

Abstract

Introduction: *Staphylococcus aureus* is one of the leading agents of infections in burn centers. These microorganisms, particularly methicillin resistant isolates (MRSA), can be colonized in the nose of staff as well as colonization in hospitalized patients. So, they can provide potential source for spread of nosocomial infections especially in hospitalized patients at surgery or burn wards.

Since dissemination of these strains has serious consequences such as long hospitalization, recurrent infections, septicemia and even death, this study was done to investigate molecular characteristics and genetic relation in *S. aureus* isolated from wounds of hospitalized patients with those from nose of burn ward staff of Shahid Sadoughi Hospital in Yazd, 2018.

Methods: Totally, 70 *S. aureus* from wound of hospitalized patients were recovered. Also, nasal swabs were collected from 159 individuals working at forementioned healthcare centre for investigation and identification of *S. aureus* isolates using standard bacteriological methods.

In the following, antimicrobial susceptibility, biofilm formation, and the presence of *pvl* (encoding Pantón–valentine leucocidin toxin) and *acme* (encoding Arginine Catabolic Mobile Element) genes, were investigated. Typing of isolates was performed using SCC*mec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*) typing and sequencing of variable region of protein A encoding gene (*spa* typing).

Results: The rate of *S. aureus* nasal carriers was 10.1% (16 of 159) of which 56.3% (9 of 16) were MRSA. Of 70 *S. aureus* isolated from patients wound, 42.9% (n= 30), were identified as MRSA.

According to antimicrobial susceptibility testing, all of the isolates were susceptible to vancomycin, linezolid and quinopristin-dalfopristin. Mupirocin resistance was found in 11.4% and 1.8% of isolates from patients and staff, respectively. Incidence of multiple drug resistance was found in the most of isolates from patients (81.4%) and staff (81.2%). This proportion was 90% and 77.8% in MRSA isolated from patients and staff.

The most prevalent SCC*mec* types in both studied groups were types I, III. Among *S. aureus* and MRSA isolates, the presence of *pvl* gene was detected in 65.7% and 56.7% of patients and 75% and 66.7% of staff. The frequency of *arc* and *opp* cluster genes among MRSA from patients, were 67% and 40%, respectively. No MRSA isolates from staff, carry these genes. The ability for biofilm formation among MRSA colonizers in patients and staff were reported as 93.3% and 88.9%, respectively.

Based on *spa* typing performed on selected MRSA isolates, the most prevalent types were related to t021, t3024 and t2253 in patients and t224 and t084 in staff.

Discussion: The results of this study show the high prevalence of MRSA among hospitalized patients and individual staff of studied hospital the presence of MDR phenotype, high potential for biofilm formation and high prevalence of *pvl* gene and *acme* genes, can be proposed as facilitating

agents in colonization and infection development. Additionally, finding a clonal complex among isolates from patients and more important, the accumulation of isolates from patients and staff in one clonal complex, is alarming for necessity of more serious infection control development in this hospital.

Key words: *Staphylococcus aureus*, MRSA, nasal carrier, Burn unit

فهرست مندرجات

فهرست جداول.....	س
فهرست تصاویر و نمودارها.....	ص
فهرست ضمایم و پیوست ها.....	ق
فهرست کوتاه نوشته ها.....	ر
چکیده.....	
واژه های کلیدی.....	

فصل اول: مقدمه و اهداف

۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۲- ضرورت اجراء.....	۷
۱-۳- هدف طرح.....	۸
۱-۴- هدف اصلی طرح.....	۸
۱-۵- اهداف فرعی طرح.....	۹
۱-۶- اهداف کاربردی طرح.....	۱۰
۱-۷- فرضیات یا سؤالات پژوهش (با توجه به اهداف طرح).....	۱۰

فصل دوم: بررسی متون

۲-۱- بیان مسئله.....	۱۳
۲-۲- فاکتورهای بیماری زا در استافیلوکوکوس اورئوس.....	۱۸
۲-۲-۱- توکسین ها.....	۱۸
۲-۲-۲- عوارض جلدی.....	۲۰
۲-۲-۳- سایر عفونت ها.....	۲۲

۲۵.....	۲-۳- عوامل شکست درمانی در بیماران واجد عفونت استافیلوکوکی
۲۵.....	۲-۳-۱- کپسول استافیلوکوکی
۲۵.....	۲-۳-۲- پروتئین A استافیلوکوکوس اورئوس (SPA)
۲۶.....	۲-۳-۳- لکوسیدین پنتون والنن (PVL)
۲۷.....	۲-۳-۴- ACME : Arginine Catabolic Mobile Element
۲۸.....	۲-۳- ۵- توکسین سندرم شوک توکسیک-۱
۲۹.....	۲-۴- تشکیل بیوفیلم
۳۰.....	۲- ۵- مقاومت آنتی بیوتیکی
۳۱.....	۲-۶- تایپینگ استافیلوکوکوس اورئوس
۳۳.....	۲-۷- بررسی متون مرتبط

فصل سوم: مواد و روش ها

۴۱.....	۳-۱- جدول متغیرها
۴۲.....	۳-۲- مواد و وسایل مورد نیاز
۴۲.....	۳-۲-۱- تجهیزات
۴۲.....	۳-۲-۲- وسایل و مواد مصرفی
۴۳.....	۳-۲-۳- محیط‌های باکتریولوژیک
۴۴.....	۳-۲-۴- آنتی بیوتیک‌ها
۴۴.....	۳-۲- ۵- مواد شیمیایی، آنزیم‌ها و مارکرها
۴۵.....	۳-۳- نوع مطالعه
۴۵.....	۳-۴- جمعیت مورد مطالعه
۴۵.....	۳-۴-۱- تعریف جمعیت مورد مطالعه

۴۵	۳-۴-۲- روش محاسبه حجم نمونه و سایر اطلاعات آماری
۴۶	۳-۵- محیط‌های کشت مورد استفاده
۴۶	۳-۵-۱- محیط مولر هینتون آگار
۴۶	۳-۵-۲- محیط BHI(Brain Heart Infusion Broth)
۴۶	۳-۵-۳- محیط ژلوز خوندار (Blood Agar)
۴۷	۳-۵-۴- محیط مانیتول سالت آگار (Manitol Salt Agar)
۴۷	۳-۵-۵- محیط DNase
۴۷	۳-۵-۶- محیط تریپتوی سوی براث (Tryptoy Soy Broth)
۴۸	۳-۶- معرف ها و محلول ها
۴۸	۳-۶-۱- محلول استاندارد نیم مک فارلند (0.5 McFarland Standard)
۴۸	۳-۶-۲- تهیه بافر TBE
۵۰	۳-۷- سویه های استاندارد مورد استفاده
۵۰	۳-۸- نمونه برداری
۵۰	۳-۸-۱- روش جمع آوری نمونه ها
۵۰	۳-۸-۲- جداسازی و تأیید بیوشیمیایی استافیلوکوکوس اورئوس
۵۱	۳-۸-۳- تست کواگولاز
۵۲	۳-۸-۴- ذخیره نمونه ها
۵۲	۳-۸- ۵- شناسایی فنوتیپی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین
۵۳	۳-۸-۶- تأیید ژنوتیپی نمونه های جمع آوری شده
۵۴	۳-۸-۷- آزمایش PCR ، جهت شناسایی ژن <i>nuc</i>
۵۵	۳-۸-۸- الکتروفورز و آنالیز محصولات PCR

۵۷.....	۳-۸-۹- تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی.....
۵۸.....	۳-۸-۱۰- آزمایش PCR، جهت شناسایی ژن <i>mecA</i>
۶۰.....	۳-۸-۱۱- آزمایش PCR، جهت شناسایی تیپ های یک تا پنج <i>SCCmec</i>
۶۲.....	۳-۸-۱۲- آزمایش PCR، جهت شناسایی ژن <i>pvl</i>
۶۳.....	۳-۸-۱۳- آزمایش PCR، جهت شناسایی ژن <i>tst</i>
۶۴.....	۳-۸-۱۴- آزمایش PCR، جهت شناسایی کلاسترهای ژنی در ACME.....
۶۶.....	۳-۸-۱۵- آزمایش PCR، جهت تکثیر ژن <i>spa</i>
۶۸.....	۳-۸-۱۶- <i>spa</i> -Typing.....
۶۸.....	۳-۹- بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفيلم.....
۶۹.....	۳-۱۰- اصول اخلاقی.....

فصل چهارم: یافته ها

۷۱.....	۴-۱- جمع آوری نمونه و نتایج تست های تشخیصی.....
۷۲.....	۴-۲- نتایج کشت بر روی محیط مانیتول سالت آگار.....
۷۲.....	۴-۳- نتایج تست کواگولاز.....
۷۳.....	۴-۴- نتایج تست کاتالاز.....
۷۴.....	۴-۵- نتایج تست DNase.....
۷۵.....	۴-۶- نتایج رنگ آمیزی گرم.....
۷۵.....	۴-۷- تأیید ژنوتیپی ایزوله ها.....
۷۶.....	۴-۸- نتایج مربوط به اطلاعات نمونه های ذخیره شده.....
۷۸.....	۴-۹- نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی.....
۸۱.....	۴-۹-۱- تأیید ژنوتیپی ایزوله های MRSA (تکثیر ژن <i>mecA</i>).....

۸۲.....	۴-۹-۲- فراوانی ژن <i>pvl</i> در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس
۸۳.....	۴-۹-۳- فراوانی ژن <i>tst</i> در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس
۸۳.....	۴-۹-۴- تعیین تیپ‌های <i>SCCmec</i> در ایزوله‌های MRSA
۸۵.....	۴-۹-۵- فراوانی کلاسترهای ژنی (<i>acm& opp3AB,arcA</i>) در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس
۸۸.....	۴-۹-۶- <i>spa</i> typing
۹۱.....	۴-۱۰- توانایی تشکیل بیوفیلم

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۹۶.....	۵-۱- بحث و تفسیر
۱۰۶.....	۵-۲- نتیجه گیری
۱۰۷.....	۵-۳- پیشنهادات
۱۰۹.....	فهرست منابع
۱۲۸.....	ضمایم و پیوست‌ها

فهرست جداول

۴۱.....	جدول ۱-۳: متغیرها
۴۲.....	جدول ۲-۳: تجهیزات مورد استفاده
۴۳.....	جدول ۳-۳: وسایل و مواد مصرفی
۴۳.....	جدول ۴-۳: محیط‌های باکتریولوژیک مورد استفاده
۴۴.....	جدول ۵-۳: دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده
۴۴.....	جدول ۶-۳: مواد شیمیایی، آنزیم‌ها و مارکرها
۴۸.....	جدول ۷-۳: ترکیبات نیم مک‌فارلند
۴۹.....	جدول ۸-۳: ترکیبات بافر TBE (5x)

جدول ۳-۹: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی ژن <i>nuc</i>	۵۴
جدول ۳-۱۰: پرایمر به کار رفته در PCR ژن <i>nuc</i>	۵۴
جدول ۳-۱۱: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن <i>nuc</i> و اتصال پرایمر.....	۵۵
جدول ۳-۱۲: آنتی بیوتیک های استفاده شده به همراه کد اختصاصی و منطقه ممانعت از رشد طبق دستورالعمل CLSI.....	۵۸
جدول ۳-۱۳: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی ژن <i>mecA</i>	۵۹
جدول ۳-۱۴: پرایمر به کار رفته در PCR ژن <i>mecA</i>	۵۹
جدول ۳-۱۵: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن <i>mecA</i> و اتصال پرایمر.....	۶۰
جدول ۳-۱۶: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی تیپ های یک تا پنج <i>SCCmec</i>	۶۰
جدول ۳-۱۷: پرایمرهای به کار رفته در PCR جهت <i>SCCmec</i>	۶۱
جدول ۳-۱۸: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر <i>SCCmec</i> و اتصال پرایمرها.....	۶۱
جدول ۳-۱۹: پرایمرهای به کار رفته در Multiplex-PCR و الگوهای باند حاصل از <i>SCCmec</i> type I-V.....	۶۱
جدول ۳-۲۰: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی ژن <i>pvl</i>	۶۲
جدول ۳-۲۱: پرایمر به کار رفته در PCR ژن <i>pvl</i>	۶۲
جدول ۳-۲۲: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن <i>pvl</i> و اتصال پرایمر.....	۶۳
جدول ۳-۲۳: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی ژن <i>tst</i>	۶۳
جدول ۳-۲۴: پرایمر به کار رفته در PCR ژن <i>tst</i>	۶۴
جدول ۳-۲۵: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن <i>tst</i> و اتصال پرایمر.....	۶۴
جدول ۳-۲۶: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی کلاسترهای ژنی در ACME.....	۶۵
جدول ۳-۲۷: پرایمرهای به کار رفته در PCR کلاسترهای ژنی در ACME.....	۶۵
جدول ۳-۲۸: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر کلاسترهای ژنی در ACME و اتصال پرایمرها.....	۶۵

جدول ۲۹-۳: مواد مورد نیاز در آزمون PCR جهت شناسایی ژن <i>spa</i>	۶۶
جدول ۳۰-۳: پرایمر به کار رفته در PCR ژن <i>spa</i>	۶۶
جدول ۳۱-۳: برنامه زمان بندی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر ژن <i>spa</i> و اتصال پرایمر.....	۶۷
جدول ۳۲-۳: تقسیم بندی توانایی تشکیل بیوفیلم با روش میکروتیتر پلیت.....	۶۹
جدول ۱-۴: پراکندگی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی سیلین در بیماران بستری و پرسنل بر اساس جنسیت - تعداد (درصد).....	۷۸
جدول ۲-۴: فراوانی (درصد) پراکندگی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی پرسنل شاغل در بیمارستان سوختگی بر اساس جنسیت و شغل - تعداد (درصد).....	۷۸
جدول ۳-۴: فراوانی (درصد) پراکندگی ایزوله های MRSA جدا شده از بینی پرسنل شاغل در بیمارستان سوختگی بر اساس جنسیت و شغل - تعداد (درصد).....	۷۸
جدول ۴-۴: تعیین مقاومت دارویی ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بیماران بستری و بینی پرسنل شاغل در بیمارستان تخصصی سوختگی شهر یزد - تعداد (درصد).....	۸۰
جدول ۵-۴: تعیین مقاومت دارویی ایزوله های بالینی MRSA و MSSA جدا شده از بیماران و پرسنل.....	۸۰
جدول ۶-۴: فراوانی تیپ های SCCmec در ایزوله های جدا شده MRSA بیماران بستری و پرسنل شاغل در بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد).....	۸۵
جدول ۷-۴: فراوانی ژن <i>pvl</i> ، کلاسترهای <i>arc</i> و <i>opp</i> و مقاومت چند دارویی (MDR) در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد).....	۸۷
جدول ۸-۴: فراوانی ژن های <i>pvl</i> و مقاومت چند دارویی (MDR) در جدایه های MRSA و MSSA بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد).....	۸۷
جدول ۹-۴: فراوانی کلاسترهای <i>arc</i> ، <i>opp</i> و مقاومت چند دارویی (MDR) در جدایه های MRSA و MSSA بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد).....	۸۷
جدول ۱۰-۴: فراوانی تیپ های <i>spa</i> در ۲۴ جدایه MRSA بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد).....	۹۰

- جدول ۱۱-۴:** *spa* تایپینگ و آنالیز BURP در ۲۴ جدایه های MRSA بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد)..... ۹۱
- جدول ۱۲-۴:** فراوانی قدرت تشکیل بیوفیلم در ایزوله های بیماران بستری و پرسنل واجد استافیلوکوکوس اورئوس در بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد)..... ۹۲
- جدول ۱۳-۴:** فراوانی قدرت تشکیل بیوفیلم در ایزوله های بیماران بستری و پرسنل MRSA و MSSA در بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد)..... ۹۲
- جدول ۱۴-۴:** درصد مقاومت دارویی چندگانه ، قدرت تولید بیوفیلم ، حضور ژن های *pvl* ، *acme* و تیپ های SCCmec در ایزوله های MRSA بیماران بستری و پرسنل شاغل در بیمارستان سوختگی - تعداد (درصد)..... ۹۴

فهرست تصاویر و نمودارها

- تصویر ۱-۳:** تانک الکتروفورز حاوی محلول TBE و نمونه های داخل ژل در حال بارگذاری..... ۵۶
- تصویر ۱-۴:** کلنی های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط بلاد آگار..... ۷۱
- تصویر ۲-۴:** نتایج مثبت تست مانیتول بر روی محیط مانیتول سالت آگار..... ۷۲
- تصویر ۳-۴:** نتایج مثبت تست کواگولاز به روش های اسلایدی و لوله ای..... ۷۳
- تصویر ۴-۴:** نتیجه مثبت تست کاتالاز..... ۷۳
- تصویر ۵-۴:** ایجاد هاله روشن در اطراف باکتری موید DNase مثبت بودن میکروارگانیسم..... ۷۴
- تصویر ۶-۴:** استافیلوکوکوس اورئوس های رنگ آمیزی شده توسط روش رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ نوری..... ۷۵
- تصویر ۷-۴:** الکتروفورز محصول PCR ژن *nuc* در ژل آگارز یک درصد با طول باند 287bp..... ۷۶
- تصویر ۸-۴:** سمت راست: آنتی بیو تیک های مورد استفاده و سمت چپ: پلیت بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی براساس استاندارد CLSI..... ۷۸
- تصویر ۹-۴:** الکتروفورز محصول PCR ژن *mecA* در ژل آگارز یک درصد با طول باند 286bp..... ۸۱
- تصویر ۱۰-۴:** الکتروفورز محصول PCR ژن *pvl* در ژل آگارز یک درصد با طول باند 150bp..... ۸۲

تصویر ۱۱-۴: الکتروفورز محصول Multiplex-PCR تیپ های ژن SCCmec در ژل آگارز یک درصد با طول باندهای 359bp و 518bp.....	۸۴
تصویر ۱۲-۴: الکتروفورز محصول PCR کلاسترهای ژنی <i>arc</i> و <i>opp</i> در ژل آگارز یک درصد با طول باندهای 1183bp برای <i>opp</i> و 1946bp برای <i>arc</i>	۸۵
تصویر ۱۳-۴: الکتروفورز محصول PCR ژن <i>spa</i> در ژل آگارز یک درصد با طول باند 300-400bp.....	۸۸
تصویر ۱۴-۴: الکتروفروگرام و ردیف سازی ژن در <i>spa</i> -type.....	۸۹
تصویر ۱۵-۴: قرائت OD میکروپلیت های تولید بیوفیلیم توسط ELISA Reader.....	۹۳
نمودار ۱-۴: درصد مقایسه ی توانایی تولید بیوفیلیم در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس MRSA و MSSA بیماران بستری و پرسنل بیمارستان سوختگی.....	۹۳

فهرست ضمایم و پیوست ها

پیوست شماره ۱: فرم رضایت آگاهانه شرکت در طرح تحقیقاتی.....	۱۲۹
پیوست شماره ۲: رضایت نامه.....	۱۳۱
پیوست شماره ۳: پرسشنامه.....	۱۳۲
پیوست شماره ۴: کد اخلاق.....	۱۳۳
پیوست شماره ۵: چک لیست بررسی نسخه نهایی پایان نامه.....	۱۳۴
پیوست شماره ۶: اطلاعات ایمنی الکل اتیلیک.....	۱۳۵
پیوست شماره ۷: اطلاعات ایمنی اسید کلریدریک.....	۱۳۶
پیوست شماره ۸: منحنی الکتروفروگرام ردیف سازی ژن.....	۱۳۷

1. Patrick Murray KR, Michael Pfaller. Medical Microbiology Murray. 8th Edition. 2016;Section 4(Chapter 18):170-83.

۲. رحیمی م ک. میکروب شناسی پزشکی جاوتز. ۱۳۸۷؛ انتشارات آبیژ. جلد ۴ ص ۲۶۹ تا ۷۸.

۳. ضیغمی ح. باکتری شناسی واکر. ۱۳۸۹؛ انتشارات اندیشه رفیع. جلد ۲ ص ۱۶۳ تا ۸.

۴. رحیمی م ک. میکروب شناسی زینسر. ۱۳۸۹؛ انتشارات آبیژ: ص ۲۶ تا ۴۸.

5. Chen K LS, Li P, Song Q, Luo D, Liu T, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with burns in a regional burn center, Southeastern China. BMC Infectious Diseases. 2018;18(1):51.

6. Kim HK, Thammavongsa V, Schneewind O, Missiakas D. Recurrent infections and immune evasion strategies of *Staphylococcus aureus*. Current opinion in microbiology. 2012;15(1):92-9.

7. Kowalski TJ BE, Osmon DR. Epidemiology, treatment, and prevention of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Mayo Clinic proceedings. 2005;80(9):1201-7.

8. McCarthy AJ LJ MA. *Staphylococcus aureus* innate immune evasion is lineage specific: a bioinformatics study. Infect Genet Evol. 2013;19:7-14.

9. van Hal SJ, Jensen SO, Vaska VL, Espedido BA, Paterson DL, Gosbell IB. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. Clinical Microbiology Reviews. 2012;25(2):362-86.

10. Kowalski TJ, Berbari EF, Osmon DR. Epidemiology, treatment, and prevention of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Mayo Clinic proceedings. 2005;80(9):1201-7.

11. Bei Jianga SY, Bo Youa, Yali Gonga, Guangtao Huanga, Zichen Yanga, Yulong Zhanga, Yu Chena, Jing Chena, Zhiqiang Yuana, Xiaomei Hu, Yizhi Penga. Antimicrobial resistance and virulence genes profiling of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in a burn center: A 5-year study. *Microbial Pathogenesis*. 2019;114:176-18.
12. A.M Ebrahimzadeh Namvar, Babak Asghari, Abdolaziz Rastegar Lari. Characterisation of *SCCmec* elements in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients. *Burns*. 2014; 40(4):708-12.
13. Sadeghi J, Mansouri S, Molecular characterization and antibiotic resistance of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* obtained from Southeast of Iran-Kerman. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2014;122(5):411-05
14. Santosaningsih D, Santoso S, Budayanti NS, Suata K, Lestari ES, Wahjono H, et al. Characterisation of clinical *Staphylococcus aureus* isolates harbouring *mecA* or Panton-Valentine leukocidin genes from four tertiary care hospitals in Indonesia. *Tropical medicine & international health* 2016;21(5):610-8.
15. Brennan GI, Shore AC, Corcoran S, Tecklenborg S, Coleman DC, O'Connell B. Emergence of hospital- and community-associated panton-valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST772-MRSA-V in Ireland and detailed investigation of an ST772-MRSA-V cluster in a neonatal intensive care unit. *Journal of clinical microbiology*. 7-841 : (3)50;2012.

16. Thurlow LR, Joshi GS, Clark JR, Spontak JS, Neely CJ, Maile R, et al .Functional modularity of the arginine catabolic mobile element contributes to the success of USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Cell host & microbe*. 2013;13(1):100-7.
17. Alonzo Fr, Torres VJ. A lesson in survival : *S. aureus* versus the skin. *Cell host & microbe*. 2013;13(1):3-5.
18. Diep BA, Stone GG, Basuino L, Graber CJ, Miller A, des Etages SA, et al. The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette mec linkage : convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of infectious diseases*,30-1523 : (11)197;2008.
19. Anna C. Shore ASR, Orla M. Brennan, Peter M. Kinnevey, Hilary Humphreys, Derek J. Sullivan, Richard V. Goering, Ralf Ehricht, Stefan Monecke and David C. Coleman. Characterization of a novel arginine catabolic mobile element (ACME) and staphylococcal chromosomal cassette mec composite island with significant homology to *Staphylococcus epidermidis* ACME type II in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotype ST22-MRSA-IV .*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011;55(5):1896-905.
20. Chung JW KM, Greenwood-Quaintance KE,Ballard AD,Tilahun A,Khaleghi SR,etal. Superantigen profiling of *Staphylococcus aureus* infective endocarditis isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014;79(2):119-24.
21. Macias ES PF, Rietkerk W, Safai B. Superantigens in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2011;64(3):455-72.

22. Mohammad Bokaeian HT, Shahram Shahraki Zahedani, Javad Adabi. An investigation of toxic shock syndrome toxin-1 gene in methicillin-resistant clinical strains of *Staphylococcus aureus* using multiplex PCR method. Qom University of Medical Sciences Journal. 2017;11(1):57-67.
23. Lozano C P-ON, Crettaz J, Rojo-Bezarez B, Benito D, Olarte I, et al. Changes in genetic lineages, resistance, and virulence in clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Spanish hospital. Journal of Infection and Chemotherapy. 2013;19(2):233-42.
24. Ohadian Moghadam S PM, Aminharati F Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. Journal Of Infection In Developing Countries. 2014;8 (12):1511-7.
۲۵. رحیمی م ک. میکروب شناسی زینسر. ۱۳۸۹؛ انتشارات آبیژ: ص ۲۶ تا ۴۸.
26. Nana Ama Amissah LvD, Anthony Ablordey, Opoku-Ware Ampomah , Isaac Prah, Caitlin S.TeHeh, Tjip S.van der Werf, Alexander W.Friedrich, John W.Rossen, Jan Maarten van Dijl, Ymkje Stienstra. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in a burn unit of a tertiary care center in Ghana. 2017.
27. Fré dé ric Barbut SY, Maurice Mimoun , Julien Pham , Marc Chaouat , Jonathan A. Otter. Reducing the spread of *Acinetobacter baumannii* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* on a burns unit through the intervention of an infection control bundle. Burns. 2013; 39(3):395-403.
28. Tigist Alebachew GY, Ayelegn Derabe, Zufan Sisay. *Staphylococcus aureus* burn wound infection among patients attending yekatit 12 hospital burn unit ,Addis Ababa, Ethiopia. Ethiopian Journal of Health Sciences 2012;22(3):209-13.

29. Gadyari F, Sattari M, Boroumand MA, Yaghoubi R, Sepehriseresht S, Purgholi L. Detection of *Staphylococcus aureus* Entrotoxins A to D in clinical strains isolated from burned patients of Tehran Motahari Hospital. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2011;5(1):20-7.
30. Ghazvini K, Malek Jafarian M, Amouzegar MH. Bacteriology and antibiotic sensitivity patterns of burn wound infections in Emam Reza Burn Care Center, Mashhad. Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research. 2008;5(4):55-62.
۳۱. زوارس، ممانی م، مشعوف ی، هاشمی س ح. فراوانی عفونت باکتریال زخم های سوختگی و مقاومت دارویی آنها در مراجعین به بخش سوختگی بیمارستان بعثت همدان. نشریه جراحی ایران. ۱۳۸۸؛ ۱۷ (۱).
32. Abbasi S, Khaledi M, Gholipour A, Heidari R. Assessment of the prevalence of *Staphylococcus aureus* in nose of the surgical staff of Hajar and Kashani's hospital in 2015. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2017;19(2):1-5.
33. LA H. Control of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* in the hospitalsetting. Am J Med. 1999;106:11 S-8S.
34. Coleman DC, Pomeroy H, Estridge J.K, Kean C.T. Susceptibility to antimicrobial agents and analysis of plasmids in gentamicin-and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Dublin hospital. 20,pp. 1985:157-67.
35. Otter JA, French, G.L. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet Infect Dis. 2010;10(4):227-39.
36. Tenover FC BI, Lancaster MY. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2001;7 (2):327-32.

37. Shopsin B KB. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2001;7 : 323-6.
38. Ramana KV, Mohanty S.K, Wilson CG. *Staphylococcus aureus* colonization of anterior nares of school going children. Indian J Pediatr. 2009;76(8):813-6.
39. Creech CB, Kernodle D.S, Alsentzer A, Wilson C, Edwards K.M. Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(7):617-21.
40. Duckworth GJ, Lothian J.L ,Williams J.D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 11,pp. 1988:1-15.
41. Noda M, Kato I, Hirayama T, Matsuda F. Mode of action of staphylococcal leukocidin : effects of the S and F components on the activities of membrane-associated enzymes of rabbit polymorphonuclear leukocytes. 35,pp. 1982:38-45.
42. Cheng AG, Kim H.K, Burt M.L.Genetic requirements for *Staphylococcus aureus* abscess formation and persistence in host tissues. 23,pp. 2009:3393- 404.
43. Schneewind O, Model P, Vincent A. Sorting of protein A to the staphylococcal cell wall. 70,pp. 1992:26.81-7.
44. Schneewind OAF, Fowler A, Faull K.F.Structure of the cell wall anchor of surface proteins in *Staphylococcus aureus*. 268,pp. 1995:103-6.
45. Johnson WM, Tyler S.D , Ewan E.P, Ashton F.E, Pollard D.R.Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. 29,pp. 1991:426-30.

46. Parsonnet J, Hansmann M.A, Delaney M.L, Modern P.A, Dubois A.M, Wild J.E, Seymour J.L. Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1-producing *Staphylococcus aureus* and the presence of antibodies to this superantigen in menstruating women. 43,pp. 2005 :4628-34.
47. Kuroda M, Ohta T, Bab T, Yuzawa H, Coi L. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 357,pp. 2001 :1225-40.
48. Fessler AT, Kadlec K, Schwarz S. Novel apramycin resistance gene *apmA* in bovine and porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolates. 55,pp. 2011 :373-5.
49. Kadlec K, et al Novel ABC transporter gene, *vga(C)*, located on a multiresistance plasmid from a porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. 53,pp. 2009 :3589-91.
50. Kadlec K, Schwarz S. Identification of a Novel Trimethoprim Resistance Gene, *dfrK*, in a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 Strain and Its Physical Linkage to the Tetracycline Resistance Gene *tet(L)*. 53,pp. 2009 :776-8.
51. Varga M. Efficient transfer of antibiotic resistance plasmids by transduction within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone. 322,pp. 2012 :146-52.
52. Adnan SD, Gray D.E, Wannamaker L.W. Bactericidal Substance From *Staphylococcus aureus*. 131,pp. 1970 :1004-15.
53. Collen D. Staphylokinase: a potent, uniquely fibrin-selective thrombolytic agent. 4,pp. 1998 :279.
54. Sabour PM, Gill J.J, Lapp D. L, Pacan J. C, Ahmed R. Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. 42,pp. 2004 :3449-55.

55. Stout VG, Landolo J.J . Chromosomal gene transfer during conjugation by *Staphylococcus aureus* is mediated by transposon-facilitated mobilization. 172,pp. 1990;6148-6150.
56. Justyna B, Sokolova O, Bozko P . Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. Journal of Pathogens. 2011;pp:1-13.
۵۷. ذره دار م، جهان‌دیده ح، جوادپور س، قسمتی م، عیسی زاده خ. باکتری شناسی. انتشارات شابک. ۱۳۹۱:ص ۳۸۵ تا ۴۰۴.
58. Huseby M, Shi K, Brown C.K, Digre J. Structure and Biological Activities of Beta Toxin from *Staphylococcus aureus*. 189,pp. 2007:8719-26.
59. Hunter SE, Brown J.E, Oyston P.C, Sakurai J. Molecular genetic analysis of beta-toxin of *Clostridium perfringens* reveals sequence homology with alpha-toxin, gamma-toxin, and leukocidin of *Staphylococcus aureus*. 61,pp. 1993:3958-65.
60. Cole C, Gazewood J . Diagnosis and Treatment of Impetigo. 75,pp. 2007:859-64.
61. Robert S. Treatment of impetigo : a reviw. 4,pp. 601-1985:597.
62. Sladden MJ, Johnston G.A . Common skin infections in children. 329,pp. 2004:95-9.
63. Ladhani S, Evans R .Staphylococcal scalded skin syndrome. 78,pp. 1998:85-8.
64. Momtaz H. T. E, Rahimi E, Momeni M . Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. 20,pp. 2011:519-22.

65. Neylon O, O'Connell N.H, Slevin B, Powell J, Boyle L, Whyte D, Mannix M. Neonatal staphylococcal scalded skin syndrome: clinical and outbreak containment review. 169,pp. 2010:1503-9.
66. John P, Farouk L, Salini A .Neonatal Staphylococcal Scalded Skin Unusual Phage Type. Syndrome : Massive Outbreak Due to an. 66,pp. 1980.90-285 :12.
67. Shi D, Higuchi W, Takaho T.Bullous Impetigo in Children Infected with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Alone or in Combination with Methicillin-Susceptible *S. aureus*: Analysis of Genetic Characteristics, Including Assessment of Exfoliative Toxin Gene Carriage. 49,pp. 2011 :1972-4.
68. Schlievert PM. Staphylococcal scarlet fever : role of pyrogenic exotoxins. 31,pp. 1981 :732-6.
69. Beekmann SE, Henderson, D. K. . Infections caused by percutaneous intravascular devices. 7,pp20.716-10 :3697.
70. Kern W. Management of *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis : progresses and challenges. 23,pp. 2010 :346-58.
71. PettiC. V, G.F. . *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. 16,pp. 2002 :413-35.
72. Kliegman RM. Textbook of Pediatrics. pp. 2007 :2845-7.
73. Robert W. Textbook of rheumatology Arthritis and. 13,pp. 1997 :2253-87.
74. Ragle BE, Karqinov V.A, Wardenburg B. Prevention and Treatment of *Staphylococcus aureus* Pneumonia with a β -Cyclodextrin Derivative. 54,pp.304-201 :298.

75. Rubinstein E, Kollef M, Nathwani D. Pneumonia Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. 46,pp. 2008:378-85.
76. Calhoun JH, Manning M. M, Shirriff M. Osteomyelitis of the Long Bones. 23,pp. 2009:59-72.
77. Shore AC RA, Brennan OM, Kinnevey PM Humphreys H, Sullivan DJ and et al. Characterization of a Novel Arginine Catabolic Mobile Element (ACME) and Staphylococcal Chromosomal Cassette mec Composite Island with Significant Homology to *Staphylococcus epidermidis* ACME Type II in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Genotype ST22-MRSA-IV. Antimicrob Agents Chemother 2011;55(5):1896-905.
78. Ellington MJ, Yearwood L, Ganner M, East C, Kearns AM. Distribution of the ACME-arcA gene among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from England and Wales. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2008;61(1):73-7.
79. Martin- Lopez JV P-RE, Claverie- Martin F, Diez Gil O, Batista N, Morales M et al. Detection of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates Harboring the *ica* Gene Cluster Needed for Biofilm Establishment. JCM. 2002;40(4):1569-70.
80. Alexei Brooun SL, and Kim Lewis. A Dose-Response Study of Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000;44(3):640-6.
81. Mirzaee M N-PS, Behmanesh M, Moghadam MF, Ghasemian A-M. Detection of Intracellular Adhesion (*ica*) Gene and Biofilm Formation *Staphylococcus aureus* Isolates from Clinical Blood Cultures JMB. 2014;3(1,2):1-7.

82. Namvar AE AB, Ezzatifar F, Azizi G, Lari AR. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. GMS hygiene and infection control 2013;8(1):Doc03.
83. Cramton SE GC, Schnell NF, Nichols WW, Gotz F. The intercellular adhesion (*ica*) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation *infect immun*. 1999;67(10):5427-33.
84. Manago K NJ, Wakimoto N, Miyanojara H, Sarantuya J, Tokuda K, et al. Biofilm formation by and accessory gene regulator typing of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* strains recovered from patients with nosocomial infections. *infect Cont Hosp Epidemiol*. 2006;27(2):188-90.
85. Nadai TRD, Daniel R.F, Nadai M.N, Feres O . Hyperbaric oxygen therapy for primary sternal osteomyelitis : a case report. 7,pp. 2013 :167.
86. Bruns W, Reynolds P.E. Mechanism of intrinsic penicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*. Binding of penicillin G to the cytoplasmic membrane of resistant staphylococci. 30,pp. 1980:1469-75.
87. Jensen SO, Lyon B.R. Genetics of Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*. 4,pp. 2009 :565-82.
88. Chen JHK CV, Chan JFW, She KKK, Yan MK, Yau MCY and et al. The use of high-resolution melting analysis for rapidspatyping on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Microbiol Meth*. 2013;92 99-102.

89. David MZ, Taylor A, Lynfield R, Boxrud DJ, Short G, Zychowski D, et al. Comparing pulsed-field gel electrophoresis with multilocus sequence typing, *spa* typing, staphylococcal cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) typing, and PCR for panton-valentine leukocidin, *arcA*, and *opp3* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a U.S. Medical Center. *Journal of clinical microbiology*. 2013;51(3):814-9.
90. Schouls LM, Spalburg EC, van Luit M, Huijsdens XW, Pluister GN, van Santen-Verheuvél MG, et al. Multiple-locus variable number tandem repeat analysis of *Staphylococcus aureus*: comparison with pulsed-field gel electrophoresis and *spa*-typing. *PloS one*. 2009;4(4):e5082.
91. Brakstad OG AK, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *Journal of clinical microbiology*. 1992;30(7):1654-60.
92. Koreen L RS, Graviss EA Naidich S, Musser JM, Kreiswirth BN. *spa*Typing Method for Discriminating among *Staphylococcus aureus* Isolates : Implications for Use of a Single Marker To Detect Genetic Micro- and Macrovariation. *J Clin Microbiol* 2004;42(2):792-9.
93. WiŚniewska K SA, Piechowicz L, Bronk M, Samet A, ŚwieĆ K. The use of *spa* and phage typing for characterization of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the University Clinical Center in Gdańsk, Poland. *Folia Microbiol*. 2012;57:243-9.
94. Sabat AJ BA, Nashev D, Sá-Leão R, Van Dijl JM, Laurent F and et al. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Eurosurveillance*. 2013;18(14):20380.
95. Narukawa M YA, Note R, Funada H. Sequence-Based *spa* Typing as a Rapid Screening Method for the Areal and nosocomial outbreaks of MRSA. *Tohoku J Exp Med*. 2009;218:207-13.

96. Clinton K. Murray RLH, Michael W. Ellis et al. Twenty-five year epidemiology of invasive methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates recovered at a burn center. *burns* 2009;35:1112-7.
97. Najmeh Parhizgar SSK, Seyed Ali Asghar Malekhosseini. High frequency of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III and Spa types t037 and t631 isolated from burn patients in southwest of Iran. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2015;124:221-8.
98. Rashedul Hasan MA, Rashed Noor. Prevalence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from burn wound infections. *Tzu Chi Medical Journal* 2016;28 49-53.
99. Motallebi MJ, Kheirollah Asadolahi, Morovat Taherikalani, Mohammad Emaneini. Spreading of genes encoding enterotoxins, haemolysins, adhesin and biofilm among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains with staphylococcal cassette chromosome mec type III A isolated from burn patients. *Microbial Pathogenesis*. 2016;97:34-7.
100. Goudarzi M MB, Satarzadeh Tabrizi.M et al. Genetic diversity of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn patients in Iran : ST239-SCCmec III/t037 emerges as the major clone. *Microbial Pathogenesis* 2017;105 1-7.
101. Ghaderi Afshari S AAS, Goudarzi H et al. Distribution of SCCmec Types in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Burn Patients. *Arch Clin Infect Dis*. 2017 April;12(2):e62760.

102. Goudarzi M, Hashemi A et al. Genetic Variability of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Burns Patients. *Osong Public Health Res Perspect* 2019;10.6-170:(3).
103. Goudarzi M, Ramin Pouriran and Eslami G. Genotype distribution of Panton-Valentine leukocidin (PVL) positive *Staphylococcus aureus* strains isolated from wound related infections : A three year multi-center study in Tehran, Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2019.
104. Navidin M, Pouriran R, Azimi H and Goudarzi M. Molecular Analysis and Integron Carriage of Mupirocin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from BurnWound Infections, Tehran, Iran. *Arch Clin Infect Dis* 2019 February;14(1):e84764.
105. Werner Ruppitsch AI, Anna Stoger, Barbara Mayer, Silke Stadlbauer, Gunther Wewalka and Franz Allerberger. Classifying *spa* Types in Complexes Improves Interpretation of Typing Results for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Journal of clinical microbiology*. 2006 July 44(7):2442-8.
106. Dibah S, Arzanlou M, Jannati E, Shapouri R. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens in Ardabil, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*. 2014;6(3):163-8.
107. Lozano C, Gomez-Sanz E, Benito D, Aspiroz C, Zarazaga M, Torres C. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *Int J Med Microbiol*. 2011;301(6):500-5.

108. Havaei SA, Moghadam SO, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of Genes Encoding Bi-Component Leukocidins among Clinical Isolates of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Iranian Journal of Public Health. 2010;39(1):8-14.
109. Thomas E, Davis DDF, Ellen C.Aeschleman. Rapid, direct identification of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* from blood cultures using commercial immunologic kits and modified conventional tests. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 1992 May-June 15(4):295-300.
110. Sandeep T, Rathish K.C. Evaluation of Direct Tube Coagulase Test in Diagnosing Staphylococcal Bacteremia, Journal of Clinical and Diagnostic Research(JCDR). 2014 May 8(5):DC19 - DC21
111. Broekema NM, Van TT, Monson TA, Marshall SA, Warshauer DM. Comparison of Cefoxitin and Oxacillin Disk Diffusion Methods for Detection of *mecA*-Mediated Resistance in *Staphylococcus aureus* in a Large-Scale Study. Journal of clinical microbiology. 2009;47(1):217-9.
112. Moore E, Arnscheidt A, Krüger A, Strömpl C, Mau M. Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures 2004. MMEM-1.01/3 p.
113. Institute CaLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 28th ed. 2018;38.(3)
114. Sabat A K-RJ, Strzalka W, Filipek R, Kosowska K, Hryniewicz W, et al. New method for typing *Staphylococcus aureus* strains: multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of

polymorphism and genetic relationships of clinical isolates. Journal of clinical microbiology. 2003;41(4):1801-4.

115. Boye K MDB, Andersen I.S, Møller J.A and Westh H. A new multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I-V. Clinical Microbiology and Infection. 2007;13 :725-7.

116. Azimian A FH, Akbrai M. Genetic characterization of methicillin-Resistant and sensitives Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* strains isolated from different Iranian hospitals. ISRN Microbiol 2012;50 :3581-5.

117. Mehrotra M WG, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. Journal of Clinical Microbiology. 2000;38(3):1032-5.

118. Diep BA GS, Chang RF, Phan TH, Chen JH, Davidson MG, Lin F, Lin J, Carleton HA, Mongodin EF and et al. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet. 2006;367:731-9.

119. Strommenger B BC, Heuck D, Schmidt C, Pasemann B, Nübel U, et al. Spa typing of *Staphylococcus aureus* as a frontline tool in epidemiological typing. Journal of clinical microbiology. 2008;46:81-574(2).

120. Larry Koreen SVR, Edward A, Graviss et al. spa Typing Method for Discriminating among *Staphylococcus aureus* Isolates : Implications for Use of a Single Marker To Detect Genetic Micro- and Macrovariation. Journal of clinical microbiology. 20.4 feb.;42(2):792-9.

121. Sattar Mohammadi ZS, Azam Monjezi, Mohammad-Hossein Maleki, Setareh Soroush, et al. Emergence of SCCmec type III with variable antimicrobial resistance profiles and spa types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from healthcare- and community-acquired infections in the west of Iran. International Journal of Infectious Diseases. 2014;25:152-8.
122. Sola C GG, Vindel A, Patrino L, Bocco JL. Identification of a novel methicillin resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clone in Cordoba, Argentina, involved in nosocomial infections. J Clin Microbiol. 2002;40:1427-35.
123. Davies J DD. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR. 2010;74:417-33.
124. David MZ DR. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. Clinical microbiology reviews. 2010;23:616-87.
125. Rashidian M TA, Goudarzi S. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal carriers and resistant to antibiotic isolates, in the clinical staff of Besat hospital in Sanandaj, . Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2001;6(1):1-8.
126. Ghasemian R NN, Shojaeefar A. The prevalence of *S. aureus* nasal carriers and antibiotic resistance patterns in health care workers, in Razi hospital, in GhaemShahr Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2004;14(44):79-86.
127. Rongpharpi SR HN, Kalita H. The prevalence of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthcare workers at a tertiary care hospital in assam with special reference to MRSA. J Clin Diagn Res. 2013 Feb;7(2):257-60.

128. Shibabaw, et al. Nasal carriage rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among Dessie Referral Hospital Health Care Workers; Dessie, Northeast Ethiopia. Antimicrobial Resistance and Infection Control 2013 2 25.
129. Kogekar KJ S.P, Priyanka Kumari, Nilesh Chavan, Prashant Peshattiwar, Madhurendra S, Rajput. High level of MRSA colonization in health care worker: alarm to implement health care policy. World J Clin Pharmacol Microbiol Toxicol. 2015;1(2):21-5.
130. Alborzi A PB, Salehi H, Pourabbas B, Oboodi B, Panjehshahin. Prevalence and pattern of antibiotic sensitivity of methicillin sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Shiraz-Iran. Irn J Med Sci 2006;25:1-8.
131. Reza Besharati MG, Saghar Safamanesh, Mahsa Khosrojerdi, Kiarash Ghazvini, Sara Nojumi, Toktam Memariani, Hosein Lashkardoost and Amir Azimian. Molecular Epidemiology of Panton-Valentine Leukocidin Harboring Hospital-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Septicemic Children, Northeastern Iran, Bojnurd Jundishapur Journal of Microbiology. Published online 2019;17;2.
132. Alexander Mellmann TW, Christoph Berssenbrügge, Jörg Rothgänger, Michael Sammeth. Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the long-term evolution of *Staphylococcus aureus* populations based on spa polymorphisms. BMC Microbiology. 2007;7(98).

تاریخ: ۱۳۸۷/۰۸/۰۷

بسمه تعالی



شماره: ۹۹۳۰۵۸۳

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تحصیلات تکمیلی دانشگاه

کد اخلاقی:

جلسه دفاعیه پایان نامه آقای ولی داد کارشناسی ارشد رشته میکروپزشکی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " بررسی خصوصیات مولکولی و ارتباط ژنتیکی ایزوله های استافیلوکوکوس اورالوس جدا شده از زخم بیماران بستری و ایزوله های جدا شده از بینی پوستل بخش سوختگی بیمارستان شهید صدوقی یزد در سال ۱۳۹۷ " در ساعت ۱۳:۰۰ روز یکشنبه مورخ ۱۳۸۷/۱۱/۲۷ حضور اعضای محترم هیات داوران منتهی الیه:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استاد راهنما (اول)	سرکار خانم دکتر فرشته صفاری	
ب: استاد راهنما (دوم)	جناب آقای دکتر محمد مرادی	
ج: استاد مشاور	_____	
د: استاد مشاور (دوم)	_____	
د: عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر حسین حسینی نوه	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	سرکار خانم دکتر زهرا بابایی	
ر: نماینده تحصیلات تکمیلی	جناب آقای دکتر محمدرضا شکیبایی	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹/۵ مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی

